

## STUDI *IN SILICO* ENZIM $\gamma$ -LAKTAMASE ARCHAEA *Sulfolobus solfataricus*: ANALISIS STRUKTURAL DAN FUNGSIONAL

**Kenia Permata Sukma**

Program Studi Teknologi Bank Darah, Politeknik Kesehatan YBA Bandung, Program Studi Biologi, Universitas Halim Sanusi

\*Corresponding Author : keniasukma@gmail.com

### ABSTRAK

Enzim laktamase merupakan salah satu enzim dari archaea, yang diketahui dapat menghambat enzim yang berperan penting dalam virulensi HIV dan Hepatitis B. Enzim tersebut ditemukan pada archaea *Sulfolobus solfataricus*, dalam 2 jenis, yaitu (+)- $\gamma$ -laktamase Sso 2810 dan (+)- $\gamma$ -laktamase 2122. Namun, studi tentang kedua enzim ini belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengenal lebih lanjut enzim tersebut dengan pendekatan studi *in silico*. Metode penelitian mencakup penentuan karakteristik fisika protein, analisis struktur primer, sekunder, tersier, beserta analisis fungsi protein. Sekuens enzim diperoleh dalam bentuk FASTA dari NCBI. Selanjutnya analisis dilakukan dengan menggunakan *tool* seperti ExPASY-ProtParam, SOPMA, RAMPAGE, Swiss Prot Expasy, SIB myhits, InterProScan, TMHMM, dan Peptide Cutter. Hasil identifikasi berdasarkan ExPASY-ProtParam menunjukkan bahwa pI dari enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 adalah 5,47 dan pI Sso2122 adalah 5,94. Adapun berat molekul dari masing-masing enzim berturut-turut adalah 34950,42 dan 55655,38 pada  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2212. Nilai indeks alifatik (Sso2810: 101,7) dan (Sso2122:90,14) menyatakan kedua enzim bersifat termostabil. Berdasarkan nilai hidropatisitas, Sso2810 (0,002) bersifat sedikit hidrofobik, sedangkan Sso2122 (-0,197) bersifat hidrofilik. Protein Sso2810 masuk ke dalam famili Acetamidase, sedangkan Sso2122 masuk ke dalam famili Amidase. Berdasarkan hasil studi *in silico* enzim laktamase *Sulfolobus solfataricus* tersebut, enzim ini sangat potensial untuk dieksplorasi karakteristiknya lebih jauh sehingga dapat dimanfaatkan secara lebih optimal, salah satunya untuk kandidat anti-HIV dan Hepatitis B.

**Kata kunci:**  $\gamma$ -laktamase, archaea, *in silico*, *Sulfolobus solfataricus*

### ABSTRACT

Lactamase enzyme is one of the enzymes from archaea, which is known to inhibit enzymes that play an important role in HIV and Hepatitis B virulence. This enzyme is found in archaea *Sulfolobus solfataricus*, in 2 types, namely (+)- $\gamma$ -lactamase Sso 2810 and (+)- $\gamma$ -lactamase 2122. However, studies on these two enzymes have not been widely explored. This study aims to learn more about these enzymes using an *in silico* study approach. Research methods include determining the physical characteristics of proteins, analysis of primary, secondary, tertiary structures, along with protein function. Enzyme sequences were obtained in the FASTA form from NCBI. Furthermore, the analysis was carried out using tools such as ExPASY-ProtParam, SOPMA, RAMPAGE, Swiss Prot Expasy, SIB myhits, InterProScan, TMHMM, and Peptide Cutter. Identification results based on ExPASY-ProtParam showed that the pI of the  $\gamma$ -lactamase Sso2810 was 5.47 and the pI of Sso2122 was 5.94. The molecular weight of each enzyme is 34950.42 and 55655.38 for  $\gamma$ -lactamase Sso2810 and Sso2212 respectively. The aliphatic index values (Sso2810: 101.7) and (Sso2122:90.14) indicate that both enzymes are thermostable. Based on the hydropathicity value, Sso2810 (0.002) is slightly hydrophobic, while Sso2122 (-0.197) is hydrophilic. Sso2810 protein belongs to the Acetamidase family, while Sso2122 belongs to the Amidase family. Based on the results of an *in silico* study of the *Sulfolobus solfataricus* lactamase enzymes, these enzymes has the potential to be further explored in term of its characteristics thus can be utilized more optimally, one of which is for anti-HIV and Hepatitis B candidates.

**Keywords:**  $\gamma$ -lactamase, archaea, *in silico*, *Sulfolobus solfataricus*

### PENDAHULUAN

Perkembangan bioteknologi semakin menyuguhkan berbagai kemudahan dalam kehidupan manusia, terutama dalam sektor industri, seperti industri medis, farmasi, pangan,

lingkungan, dan lainnya. Penggunaan berbagai bahan kimia sebagai katalis dalam proses industri tersebut seringkali menyebabkan dampak negatif kepada lingkungan karena dihasilkannya produk-produk samping yang berbahaya (Cabrera, M. Á., & Blamey, J. M., 2018).

Enzim yang berasal dari organisme archaea banyak memainkan peran yang penting dalam industri bioteknologi. Hal ini disebabkan karena kemampuan archaea untuk hidup di kondisi lingkungan yang ekstrim, seperti temperatur panas atau dingin, pH asam atau basa, tekanan tinggi atau rendah, salinitas tinggi atau rendah, bahkan lingkungan dengan radiasi (Reed, C. J. *et al.*, 2013). Enzim yang diisolasi dari archaea termofilik biasanya bersifat lebih tahan terhadap temperatur tinggi, tahan keberadaan pelarut, dan resisten terhadap proteolisis atau enzim yang dapat mendegradasi protein. Kesemua karakteristik tersebut penting dalam penggunaan enzim di industri secara umum (Siddiqui, K. S., & Thomas, T., 2008). Selain itu, enzim tersebut bersifat biokatalis, dengan kata lain, penggunaannya akan lebih efisien dan ramah lingkungan dibandingkan dengan enzim-enzim yang dihasilkan menggunakan bahan kimia yang berbahaya bagi alam. Biokatalis akan menjadi alternatif yang baik karena berasal dari pemanfaatan sumber daya alam yang ada, dalam hal ini, salah satunya dari mikroorganisme archaea.

Salah satu enzim archaea yang dapat digunakan sebagai biokatalis komersial dalam proses industri medis atau farmasi, adalah enzim laktamase, yang diketahui dapat menghambat reverse transkriptase dari virus HIV (Human Immunodeficiency Virus), juga diketahui berperan penting dalam sintesis karbovir dan abacavir untuk obat antivirus HIV dan Hepatitis B (Gao, S. *et al.*, 2018) (Taylor, S. J. *et al.*, 1993). Enzim tersebut ditemukan pada archaea *Sulfolobus solfataricus*, dalam 2 jenis, yaitu (+)- $\gamma$ -laktamase Sso 2810 dan (+)- $\gamma$ -laktamase 2122 (Zhu, S. *et al.*, 2016).

*Sulfolobus solfataricus* merupakan salah satu mikroorganisme archaea yang telah banyak dipelajari, baik dari segi genetik (Charlebois, R. L., *et al.*, 1996), biokimia, maupun molekuler. *S. solfataricus* pertama kali disolasi dan ditemukan di gunung berapi Solfatara, Italia pada tahun 1980 oleh dua ilmuwan mikrobiologis Jerman yaitu Karl Setter dan Wolfram Zillig (Zillig, W. *et al.*, 1980). Di antara keunggulan archaea tersebut yang membuatnya penting sebagai biokatalis industri adalah kemampuannya bertahan di lingkungan ekstrim, mudah dikultur di lingkungan laboratorium, dan dapat melakukan pertukaran materi genetik secara transformasi, transduksi dan konjugasi (Cabrera, M. Á., & Blamey, J. M., 2018). Selain laktamase, beberapa enzim dan komponen lain yang diketahui dapat dihasilkan dari *S. solfataricus* dan penggunaannya penting dalam industri, yaitu  $\beta$ -galaktosidase (Condò, I. *et al.*, 1998) (Pisani, F. M. *et al.*, 1990), protease (Hanner, M. *et al.*, 1990), esterase/lipase (Choi, Y.-H. *et al.*, 2016), chaperonin (Li, D.-C. *et al.*, 2012), dan laktonase (Restaino, O. F. *et al.*, 2018).

Namun begitu, pengetahuan tentang karakteristik dari enzim laktamase yang dihasilkan archaea *S. solfataricus* masih sangat terbatas dan belum banyak dieksplorasi lebih jauh, berdasarkan pencarian jurnal maupun artikel ilmiah terkait. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui beberapa karakteristik struktural dan fungsional enzim laktamase *S. solfataricus* melalui pendekatan *in silico*.

## METODE

Pada penelitian ini dilakukan studi *in silico* pada enzim yang dihasilkan dari archaea *Sulfolobus solfataricus*, yaitu (+)- $\gamma$ -laktamase Sso 2810 dan (+)- $\gamma$ -laktamase 2122. Tahapan yang dilakukan mencakup analisis struktur primer, struktur sekunder, struktur tersier, beserta fungsi kedua enzim tersebut. Beberapa *tool* yang digunakan antara lain ExPASy-ProtParam, SOPMA, RAMPAGE, Swiss Prot Expasy, SIB myhits, InterProScan, TMHMM, dan Peptide Cutter. Pengambilan data dilakukan selama sekitar 1 bulan, yaitu April hingga Mei 2019,

sementara analisis dilakukan paralel saat pengumpulan data, kemudian diperbaharui dan dilengkapi Juli 2023.

### Perolehan Sekuens

Sebanyak 2 sekuens enzim (+)- $\gamma$ -laktamase yang berasal dari archaea *Sulfolobus solfataricus* diperoleh dari database NCBI (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Kedua enzim yang digunakan dalam analisis memiliki nomor aksesori AAK42921.1 (Sso2810) dan AAK42301.1 (Sso2122).

### Penentuan Karakteristik Fisika Protein

Analisis parameter fisik dari enzim  $\gamma$ -laktamase archaea dilakukan dengan mempelajari parameter fisikokimia seperti jumlah dan komposisi asam amino, berat molekul, pI teoretis, koefisien ekstensi, indeks ketidakstabilan, indeks alifatik, rata-rata hidrofobisitas (GRAVY = *Grand Average of Hydrophobicity*) dengan menggunakan *tool* ExPASy-ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam>).

### Analisis Struktur Primer

Pada analisis struktur primer, asam amino  $\gamma$ -laktamase archaea ditampilkan dalam rantai polipeptida sederhana dengan menggunakan ExPASy-ProtParam.

### Analisis Struktur Sekunder

Untuk analisis struktur sekunder dilakukan identifikasi berupa jumlah  $\alpha$ -heliks,  $\beta$ -turn, *extended strand*,  $\beta$ -sheet, *coil* dengan menggunakan *tool* ExPASy SIB Bioinformatics SOPMA ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)). Untuk menggunakan SOPMA, sekuens dimasukkan sebagai *query* dalam bentuk FASTA. Adapun untuk pembuatan plot Ramachandran digunakan *tool* RAMPAGE ([mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php](http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php)) dengan sekuens dalam format PDB.

### Analisis Struktur Tersier

*Tool* SWISS-Prot Expasy digunakan untuk membuat dan memvalidasi model 3D sekuens enzim  $\gamma$ -laktamase archaea ([https://web.expasy.org/docs/swiss-prot\\_guideline.html](https://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html)).

### Analisis Fungsional

Untuk mengetahui kemungkinan terdapatnya motif pada  $\gamma$ -laktamase archaea, dilakukan SIB *myhits Motif Scan* ([myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif\\_scan](http://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif_scan)). Selanjutnya analisis fungsional protein dilakukan menggunakan *server* InterProScan ([www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence-search](http://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence-search)) dan protein diklasifikasikan menurut famili proteinnya. TMHMM ([www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM](http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM)) juga digunakan untuk mengidentifikasi topologi membran, apakah protein menempel pada membran atau bersifat ekstraseluler. *Tool* Peptide Cutter juga digunakan untuk mengidentifikasi kemungkinan sisi pemotongan oleh protease atau pun enzim dan senyawa lainnya ([web.expasy.org/peptide\\_cutter](http://web.expasy.org/peptide_cutter)).

## HASIL

### Perolehan Sekuens

Sekuens enzim  $\gamma$ -laktamase *Sulfolobus solfataricus* diperoleh dari database NCBI dengan format FASTA. Enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2122 memiliki panjang sekuens masing-masing berturut-turut 318 aa dan 504 aa.

### Analisis Karakteristik Fisika Protein

Untuk mengetahui karakteristik yang spesifik dari suatu protein atau enzim, beberapa parameter dapat diperhatikan seperti nilai pI, berat molekul, koefisien ekstinsi, indeks ketidakstabilan, indeks alifatik atau hidrofobisitas rata-rata (Gasteiger, E., *et al.*, 2005). Titik isoelektrik (pI) adalah pH dimana permukaan protein ditutupi oleh muatan tetapi muatan bersih protein adalah nol. Hasil lebih lanjut mengenai karakteristik fisika protein berdasarkan analisis menggunakan ExPASy-ProtParam ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil analisis karakteristik fisika protein (ExPASy-ProtParam)**

Enzim $\gamma$ -laktamase	N (aa)	BM (kD)	pI	KE	II	IA	GRAVY
Sso2810	318	34,95	5,47	0,1%	26,16	101,7	0,002
Sso2122	504	55,65	5,94	0,1%	29,60	90,14	-0,197

Ket: aa=jumlah asam amino, BM=berat molekul, KE=koefisien ekstinsi, II=indeks ketidakstabilan, IA=indeks alifatik, GRAVY=rata-rata hidropatisitas.

Berdasarkan tabel 1, dapat diketahui bahwa kedua enzim memiliki jumlah asam amino dan berat molekul yang berbeda cukup signifikan (Sso2810 dengan 318 aa dan 34,95 kD; Sso2122 dengan 504 aa dan 55,65 kD). Beberapa perbedaan karakteristik fisika lainnya mencakup indeks kestabilan, indeks alifatik, dan rata-rata hidropatisitasnya. Adapun koefisien ekstinsi pada keduanya sama yaitu 0,1%.

### Analisis Struktur Primer

Analisis struktur primer berdasarkan ExPASy-ProtParam mengungkapkan komposisi asam amino pada setiap enzim. Pada Sso2810, asam amino dominan yang menyusunnya adalah Alanin sebanyak 6,3%, Arginin 1,6% dan Asparagin 4,1%. Adapun asam amino yang dominan menyusun enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 yaitu Alanin sebanyak 6%, disusul oleh Arginin 4,2% dan Asparagin 3,8%. Terdapat total residu bermuatan negatif sebanyak 38, dan total residu bermuatan positif sebanyak 31 pada Sso2810. Sedangkan pada Sso2122 terdapat residu bermuatan negatif sebanyak 64, dan total residu bermuatan positif sebanyak 59.

### Analisis Struktur Sekunder

Berdasarkan analisis struktur sekunder menggunakan *tool* SOPMA, struktur  $\gamma$ -laktamase Sso2810 sebagian besar terdiri dari *random coil* (50%), diikuti dengan *extended strand/ beta-sheet* (25,16%), lalu alfa heliks (17,6%). Adapun struktur  $\gamma$ -laktamase Sso2122 menunjukkan komposisi struktur terbesar berupa *random coil* (44,05%), alfa heliks (37,10%) dan *extended strand/ beta-sheet* (13,29%). Dari analisis menggunakan *tool* RAMPAGE diperoleh tampilan data berupa plot Ramachandran yang juga mengindikasikan tingkat kestabilan protein. Sudut Ramachandran merupakan 2 sudut torsi pada rantai polipeptida, yang menggambarkan rotasi *backbone* polipeptida di sekitar ikatan antara N-C $\alpha$  (*Phi*,  $\phi$ ) dan C $\alpha$ -C (*Psi*,  $\psi$ ) (Ramachandran, G. N. *et al.*, 1963). Plot Ramachandran yang dihasilkan oleh *tool* RAMPAGE memberikan persentase residu asam amino pada berbagai daerah di antara plot  $\phi$  dan  $\psi$  rantai polipeptida; yaitu *favored region*, *allowed region*, dan *outlier region*. Semakin banyak jumlah residu pada *favored region* semakin stabil protein tersebut.

### Analisis Struktur Tersier

Analisis di tingkat struktur tersier protein dilakukan menggunakan *tool* Swiss Prot Expasy ([https://web.expasy.org/docs/swiss-prot\\_guideline.html](https://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html)) dan Raptor X (<http://raptorx.uchicago.edu/>). Hasil protein 3D yang ditunjukkan oleh Swiss Prot Expasy pada dasarnya merupakan hasil penyejajaran dengan sekuens yang telah tersedia di database PDB, dilengkapi dengan grafik yang menunjukkan skor perbandingan hasil penyejajaran tersebut.

Prediksi 3D protein lebih lanjut dilakukan dengan *tool* Raptor X. Berdasarkan hasil yang diperoleh, kedua enzim  $\gamma$ -laktamase memiliki struktur yang cukup berbeda, dan diketahui keduanya masing-masing memiliki 1 domain yang teridentifikasi. Sesuai dengan hasil analisis struktur sekunder,  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2122 memiliki struktur yang didominasi oleh *loop/ random coil*. Selain itu pada Sso2122 jumlah struktur alfa heliks ditemukan lebih banyak. Akses terhadap pelarut pada Sso2810 terdiri dari 28% E (*exposed/* terpapar), 30% M (medium/ pertengahan), dan 40% B (*buried/* terbenam). Sedangkan pada Sso2122 diperoleh 26% E, 27% M, dan 45% B.

### Analisis Fungsional

Berdasarkan *tool* SIB myhits, kedua enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2122 teridentifikasi berturut-turut masuk ke dalam famili protein Acetamidase/Formamidase dan Amidase. Adapun berdasarkan *Motif Scan*, hanya Sso2122 yang memiliki domain yang teridentifikasi. Selain itu prediksi *Gene Ontology* dan fungsi molekuler untuk keduanya pun belum teridentifikasi.

### PEMBAHASAN

*Sulfolobus solfataricus* merupakan spesies pertama archaea yang diketahui memiliki lebih dari 1 jenis enzim (+)- $\gamma$ -laktamase (Zhu, S. *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, teridentifikasi bahwa enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2122 yang dihasilkan *Sulfolobus solfataricus* bersifat asam karena memiliki pI berturut-turut 5,47 dan 5,94. Titik isoelektrik (pI) suatu protein merupakan pH saat muatan bersih molekul protein bernilai nol. Dengan kata lain, pada pH di bawah pI, protein tersebut bermuatan positif, sementara pada pH di atas pI, protein bermuatan negatif. Rentang nilai pI sangat bervariasi dari sekitar 4,0 (sangat asam) hingga 12,0 (sangat basa). Dengan mengetahui nilai pI, metode isolasi protein, pemisahan, purifikasi, dan kristalisasi protein akan lebih mudah ditentukan (Tokmakov, A. A., *et al.*, 2021). Nilai pI protein dapat ditentukan berdasarkan urutan polipeptida yang disesuaikan dengan nilai pI secara eksperimental (Sillero, A. & Ribeiro, J. M., 1989).

Berat molekul dari masing-masing enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2122 berturut-turut adalah 34950.42 dan 55655.38. Berat molekul suatu protein diketahui mempengaruhi densitas protein tersebut, di mana densitas massa protein ini berperan penting, misalnya sebagai salah satu parameter untuk menentukan struktur tiga dimensi dengan kristalografi protein dan untuk studi oligomer protein pada larutan dengan ultrasentrifugasi analitik (Fischer, H. *et al.*, 2009). Dalam suatu studi, sebanyak 80% dari total 821 protein menunjukkan kesamaan antara berat molekul yang diprediksi berdasarkan panjang asam aminonya dengan berat molekul sesungguhnya dalam eksperimen menggunakan gel SDS 1-D. Adapun perbedaan yang terjadi dapat disebabkan karena beberapa tahapan pasca-translasi, seperti penyambungan alternatif (*alternative splicing*), proses endoproteolitik, dan modifikasi pasca-translasi (Ahmad, Q. R. *et al.*, 2005).

Nilai ketidakstabilan yang rendah pada kedua enzim mengindikasikan bahwa protein bersifat stabil (Guruprasad, K. *et al.*, 1990), didukung dengan banyaknya alfa heliks pada struktur protein. Berdasarkan struktur sekundernya,  $\gamma$ -laktamase Sso2122 memiliki persentase alfa heliks yang lebih tinggi. Meskipun begitu, plot Ramachandran yang dihasilkan dari kedua enzim menunjukkan kedua protein sama-sama bersifat cukup stabil karena cukup banyaknya residu asam amino pada *favored region* dan jumlah alfa heliks yang cukup tinggi (Ramachandran, G. N. *et al.*, 1963).

Indeks alifatik suatu protein merupakan volume relatif yang ditempati rantai samping alifatik (asam amino Alanin, Valin, Isoleusin, dan Leusin) (Enany, S., 2014). Nilai indeks alifatik ini dianggap sebagai faktor positif peningkatan termostabilitas protein (Ikai, A., 1980)

(Gasteiger, E. *et al.*, 2005). Adapun nilai indeks alifatik enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2212 yang ada dalam kisaran (39.80-90.68) mengindikasikan kedua enzim bersifat termostabil, yaitu tahan terhadap suhu yang relatif tinggi. Selain itu berdasarkan nilai hidropatisitas, Sso2810 bersifat sedikit hidrofobik, menandakan protein cenderung bersifat globular, sedangkan Sso2122 bersifat hidrofilik menandakan protein cenderung berada di membran. Informasi nilai hidropatisitas tersebut dapat dijadikan acuan dalam lokalisasi protein tersebut (Enany, S., 2014).

Jumlah asam amino dominan yang menyusun kedua enzim mengindikasikan perbedaan komposisi yang tidak terlalu signifikan di antara keduanya. Asam amino tertinggi ditempati oleh Alanin, disusul Arginin dan Asparagin.

Prediksi struktur tiga dimensi enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2122 memperlihatkan struktur yang cukup berbeda, meskipun sama-sama memiliki 1 domain yang teridentifikasi. Kombinasi domain yang berbeda pada suatu protein menghasilkan keragaman famili protein yang ada di alam (Punta, M. *et al.*, 2011). Selain itu, berdasarkan hasil analisis struktur sekunder,  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2122 memiliki struktur yang didominasi oleh *loop/random coil*, dan pada Sso2122 jumlah struktur alfa heliks ditemukan lebih banyak. Adapun karakteristik kedua enzim berkaitan dengan persentase aksesnya terhadap pelarut menunjukkan perbedaan yang tidak begitu signifikan.

Analisis fungsional pada kedua enzim mengidentifikasi  $\gamma$ -laktamase Sso2810 termasuk ke dalam famili protein Acetamidase/Formamidase, sedangkan  $\gamma$ -laktamase Sso2122 termasuk dalam famili Amidase. Adapun berdasarkan prediksi *Gene Ontology* dan fungsi molekulernya, fungsi kedua enzim laktamase pada intraseluler *Sulfolobus solfataricus* belum teridentifikasi dan masih perlu dikaji lebih lanjut (Duvaud, S. *et al.*, 2021).

## KESIMPULAN

Studi *in silico* pada  $\gamma$ -laktamase archaea penting untuk mengetahui berbagai karakteristik dari protein tersebut sehingga dapat digali lebih jauh tentang kondisi produksi enzim yang optimal, beserta pemanfaatannya dalam berbagai industri. Salah satu potensi laktamase dalam bidang kesehatan, yaitu memiliki karakteristik sebagai anti HIV dan anti Hepatitis B. Pada hasil studi *in silico* kedua enzim (+)- $\gamma$ -laktamase *Sulfolobus solfataricus*, diketahui bahwa kedua enzim bersifat termostabil. Hasil identifikasi berdasarkan ExPASy-ProtParam menunjukkan bahwa pI dari enzim  $\gamma$ -laktamase Sso2810 adalah 5,47 dan pI Sso2122 adalah 5,94. Adapun berat molekul dari masing-masing enzim berturut-turut adalah 34950.42 dan 55655.38 pada  $\gamma$ -laktamase Sso2810 dan Sso2212. Nilai indeks alifatik (Sso2810: 101,7) dan (Sso2122:90,14) juga menyatakan kedua enzim bersifat termostabil. Berdasarkan nilai hidropatisitas, Sso2810 (0,002) bersifat sedikit hidrofobik, sedangkan Sso2122 (-0,197) bersifat hidrofilik. Protein Sso2810 masuk ke dalam famili Acetamidase, sedangkan Sso2122 masuk ke dalam famili Amidase. Berdasarkan hasil studi *in silico* enzim laktamase yang berasal dari archaea *Sulfolobus solfataricus* tersebut, enzim ini sangat potensial untuk dikembangkan lebih jauh sehingga dapat dimanfaatkan secara lebih optimal sebagai biokatalis dalam berbagai industri.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Bapak Husna N. sebagai dosen Institut Teknologi Bandung yang telah membekali Penulis dengan ilmu terkait bioinformatika, sehingga dapat diaplikasikan dalam penulisan artikel ilmiah ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Q. R., Nguyen, D. H., Wingerd, M. A., Church, G. M., & Steffen, M. A. (2005). Molecular weight assessment of proteins in total proteome profiles using 1D-page and LC/ms/MS. *Proteome Science*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/1477-5956-3-6>
- Boeckmann, B. (2003). The Swiss-PROT protein knowledgebase and its supplement TREMBL in 2003. *Nucleic Acids Research*, 31(1), 365–370. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg095>
- Cabrera, M. Á., & Blamey, J. M. (2018). Biotechnological applications of archaeal enzymes from extreme environments. *Biological Research*, 51(1). <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0186-3>
- Charlebois, R. L., Gaasterland, T., Ragan, M. A., Ford-Doolittle, W., & Sensen, C. W. (1996). The *sulfolobus solfataricus* P2 genome project. *FEBS Letters*, 389(1), 88–91. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00525-x](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00525-x)
- Choi, Y.-H., Park, Y.-J., Yoon, S.-J., & Lee, H.-B. (2016). Purification and characterization of a new inducible thermostable extracellular lipolytic enzyme from the thermoacidophilic archaeon *sulfolobus solfataricus* P1. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 124, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.11.023>
- Condò, I., Ruggero, D., Reinhardt, R., & Londei, P. (1998). A novel aminopeptidase associated with the 60 KDA chaperonin in the thermophilic archaeon *sulfolobus solfataricus*. *Molecular Microbiology*, 29(3), 775–785. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00971.x>
- Duvaud, S., Gabella, C., Lisacek, F., Stockinger, H., Ioannidis, V., & Durinx, C. (2021). ExPASy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users. *Nucleic Acids Research*, 49(W1). <https://doi.org/10.1093/nar/gkab225>
- Enany, S. (2014). Structural and functional analysis of hypothetical and conserved proteins of *clostridium tetani*. *Journal of Infection and Public Health*, 7(4), 296–307. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2014.02.002>
- Fischer, H., Polikarpov, I., & Craievich, A. F. (2009). Average protein density is a molecular-weight-dependent function. *Protein Science*, 13(10), 2825–2828. <https://doi.org/10.1110/ps.04688204>
- Gao, S., Zhu, S., Huang, R., Li, H., Wang, H., & Zheng, G. (2018). Engineering the enantioselectivity and thermostability of a (+)- $\gamma$ -lactamase from *Microbacterium hydrocarbonoxydans* for Kinetic Resolution of Vince Lactam (2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-one). *Applied and Environmental Microbiology*, 84(1). <https://doi.org/10.1128/aem.01780-17>
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *The Proteomics Protocols Handbook*, 571–607. <https://doi.org/10.1385/1-59259-890-0:571>
- Guruprasad, K., Reddy, B. V. B., & Pandit, M. W. (1990). Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: A novel approach for predicting *in vivo* stability of a protein from its primary sequence. *Protein Engineering, Design and Selection*, 4(2), 155–161. <https://doi.org/10.1093/protein/4.2.155>
- Hanner, M., Redl, B., & Stoffler, G. (1990). Isolation and characterization of an intracellular aminopeptidase from the extreme thermophilic Archaeobacterium *Sulfolobus solfataricus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1033(2), 148–153. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(90\)90005-h](https://doi.org/10.1016/0304-4165(90)90005-h)
- Ikai, A. (1980). Thermostability and aliphatic index of globular proteins. *The Journal of Biochemistry*, 88(6), 1895–1898. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a133168>

- Li, D.-C., Yang, F., Lu, B., Chen, D.-F., & Yang, W.-J. (2011). Thermotolerance and molecular chaperone function of the small heat shock protein HSP20 from hyperthermophilic archaeon, *Sulfolobus solfataricus* P2. *Cell Stress and Chaperones*, 17(1), 103–108. <https://doi.org/10.1007/s12192-011-0289-z>
- Pisani, F. M., Rella, R., Raia, C. A., Rozzo, C., Nucci, R., Gambacorta, A., Rosa, M., & Rossi, M. (1990). Thermostable beta-galactosidase from the archaeobacterium *Sulfolobus solfataricus* purification and properties. *European Journal of Biochemistry*, 187(2), 321–328. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1990.tb15308.x>
- Punta, M., Coggill, P. C., Eberhardt, R. Y., Mistry, J., Tate, J., Boursnell, C., Pang, N., Forslund, K., Ceric, G., Clements, J., Heger, A., Holm, L., Sonnhammer, E. L., Eddy, S. R., Bateman, A., & Finn, R. D. (2011). The PFAM Protein Families Database. *Nucleic Acids Research*, 40(D1). <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1065>
- Ramachandran, G. N., Ramakrishnan, C., & Sasisekharan, V. (1963). Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *Journal of Molecular Biology*, 7(1), 95–99. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(63\)80023-6](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(63)80023-6)
- Reed, C. J., Lewis, H., Trejo, E., Winston, V., & Evilia, C. (2013). Protein adaptations in Archaeal Extremophiles. *Archaea*, 2013, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2013/373275>
- Restaino, O. F., Borzacchiello, M. G., Scognamiglio, I., Fedele, L., Alfano, A., Porzio, E., Manco, G., De Rosa, M., & Schiraldi, C. (2018). High yield production and purification of two recombinant thermostable phosphotriesterase-like lactonases from *Sulfolobus acidocaldarius* and *Sulfolobus solfataricus* useful as bioremediation tools and Bioscavengers. *BMC Biotechnology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12896-018-0427-0>
- Siddiqui, K. S., & Thomas, T. (2008). Enzyme stability and activity at high temperatures. In *Protein adaptation in Extremophiles*. essay, Nova Biomedical Books.
- Sillero, A., & Ribeiro, J. M. (1989). Isoelectric points of proteins: Theoretical determination. *Analytical Biochemistry*, 179(2), 319–325. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90136-x](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90136-x)
- Taylor, S. J., McCague, R., Wisdom, R., Lee, C., Dickson, K., Rucroft, G., O'Brien, F., Littlechild, J., Bevan, J., Roberts, S. M., & Evans, C. T. (1993). Development of the biocatalytic resolution of 2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-one as an entry to single-enantiomer carbocyclic nucleosides. *Tetrahedron: Asymmetry*, 4(6), 1117–1128. [https://doi.org/10.1016/s0957-4166\(00\)80218-9](https://doi.org/10.1016/s0957-4166(00)80218-9)
- Tokmakov, A. A., Kurotani, A., & Sato, K.-I. (2021). Protein pi and intracellular localization. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.775736>
- Zhu, S., Huang, R., Gao, S., Li, X., & Zheng, G. (2016). Discovery and characterization of a second extremely thermostable (+)- $\gamma$ -lactamase from *Sulfolobus solfataricus* P2. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 121(5), 484–490. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.09.012>
- Zillig, W., Stetter, K. O., Wunderl, S., Schulz, W., Priess, H., & Scholz, I. (1980). The *Sulfolobus*-?caldariella? group: Taxonomy on the basis of the structure of DNA-dependent RNA polymerases. *Archives of Microbiology*, 125(3), 259–269. <https://doi.org/10.1007/bf00446886>